

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第10期

Vol.39 No.10

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国典型城市环境大气挥发性有机物特征比值	王鸣, 陈文泰, 陆思华, 邵敏 (4393)
2015年北京大气 VOCs 时空分布及反应活性特征	张博韬, 安欣欣, 王琴, 闫贺, 刘保献, 张大伟 (4400)
北京市建筑类涂料 VOCs 排放清单编制技术方法及应用	邓子钰, 高美平, 王庆玮, 聂磊 (4408)
基于实测的建筑类涂料挥发性有机物 (VOCs) 含量水平及组分特征	高美平, 邓子钰, 聂磊, 邵霞, 安小栓 (4414)
2014~2016年京津冀沿山城市空气质量首要污染物特征分析	王晓彦, 王帅, 朱莉莉, 许荣, 李健军 (4422)
北京市大气环境 PM _{2.5} 和 PM ₁ 及其碳质组分季节变化特征及来源分析	樊啸辰, 郎建奎, 程水源, 王晓琦, 吕喆 (4430)
南京春季北郊地区大气 PM _{2.5} 中主要化学组分及碳同位素特征	周一鸣, 韩珣, 王瑾瑾, 陈善莉, 沈潇雨, 章炎麟, 朱彬, 郭照冰 (4439)
热脱附法快速分析大气细颗粒物中非极性有机物	马英歌, 吴霞, 彭梦梦, 冯加良, 郁建珍, 乔利平, 周敏, 朱书慧, 李莉 (4446)
杭州市空气细颗粒物浓度与哮喘就诊人次的关系	王安旭, 陈曦, 宋从波, 应颂敏, 李倩, 吴琳, 毛洪钧 (4457)
基于远程通讯技术的混动公交车 SCR 系统运行及 NO _x 排放特征	杨强, 胡馨遥, 黄成, 陈昀, 刘佳栋, 李莉, 熊忠亮, 唐伟 (4463)
基于环境风险排序的流域优先污染物筛选	李奇峰, 吕永龙, 王佩, 张悦清 (4472)
重庆远郊丰都雪玉洞流域大气无机氮湿沉降变化特征与来源分析	段世辉, 蒋勇军, 张远瞩, 胡刘婵, 曾泽, 吕现福 (4479)
黑龙江凉水国家级自然保护区大气氮沉降特征	宋蕾, 田鹏, 张金波, 金光泽 (4490)
脱甲河水系 N ₂ O 关键产生过程及氮素来源探讨	赵强, 吕成文, 秦晓波, 吴红宝, 万运帆, 廖育林, 鲁艳红, 李健陵 (4497)
生物炭添加对曝气人工湿地脱氮及氧化亚氮释放的影响	王宁, 黄磊, 罗星, 梁岩, 王燕, 陈玉成 (4505)
黑麦草对水体中镉-壬基酚复合污染的生理响应及修复	史广宇, 李中义, 张路, 程媛媛, 陈宏伟, 施维林 (4512)
城市黑臭水体的吸收特性分析	丁潇蕾, 李云梅, 吕恒, 朱利, 温爽, 雷少华 (4519)
岷江上游水体中 DOM 光谱特征的季节变化	范诗雨, 秦纪洪, 刘堰杨, 孙辉 (4530)
防渗型生物滞留中试系统降雨径流水质与三维荧光特征	林修咏, 王书敏, 李强, 谢云成 (4539)
基于 ⁸ 15N和 ⁸ 18O的农业区地下河硝酸盐污染来源	盛婷, 杨平恒, 谢国文, 洪爱花, 曹聪, 谢世友, 时伟宇 (4547)
垃圾填埋场地下水溶解性有机物光谱特征	彭莉, 虞敏达, 何小松, 刘思佳, 张鹏 (4556)
铅负载颗粒沸石改良底泥对水中磷酸盐的吸附行为	梁舒静, 林建伟, 詹艳慧, 汪振华, 李雅灵, 何思琪, 陈海洋, 唐凤霞, 李志强 (4565)
基于紫外光谱分析的腐殖质混凝控制	张北辰, 张晓蕾, 秦兰兰, 黄海鸥 (4576)
AAO 工艺联合臭氧削减污水中微量有机污染物及遗传毒性	李默, 汪震哲, 陈志强, 温沁雪 (4584)
抗生素抗性基因在两级废水处理系统中的分布和去除	李奥林, 陈吕军, 张衍, 代天娇, 田金平, 刘锐, 温东辉 (4593)
磁性壳聚糖凝胶球固定厌氧铁氨氧化菌对废水氨氮去除的影响	刘志文, 陈琛, 彭晓春, 谢武明, 黄镇扬, 韩庆吉 (4601)
海藻糖强化厌氧氨氧化耦合反硝化工艺处理高盐废水的脱氮除碳效能	杨振琳, 于德爽, 李津, 王晓霞, 冯莉 (4612)
低温下 A ² /O-BAF 反硝化除磷脱氮特性	黄剑明, 赵智超, 郑隆举, 邵兆伟, 安芳娇, 陈永志 (4621)
O ₃ -BAC 深度处理石化废水厂尾水的特性及菌群结构分析	张超, 单明皓, 许丹宁, 古明哲, 代蓓蓓, 纪轩, 孙井梅 (4628)
基于 MBR 不同种泥短程硝化启动的微生物群落结构分析	吴鹏, 陈亚, 张婷, 沈耀良, 徐乐中 (4636)
3 种不同工艺切换下活性污泥菌群结构及代谢产物对污泥沉降性能的影响	温丹丹, 袁林江, 陈希, 王洋, 申童童, 刘小博 (4644)
硫酸盐还原菌活性污泥胞外聚合物对环丙沙星的吸附机制	张会群, 贾妍艳, 方荷婷, 阴琳婉, 吕慧 (4653)
包埋活性污泥反硝化性能的快速提高及群落分析	杨宏, 徐富, 孟琛, 苏姗, 袁星 (4661)
中国粮食主产区耕地土壤重金属时空变化与污染源分析	尚二萍, 许尔琪, 张红旗, 黄彩红 (4670)
典型区土壤重金属空间插值方法与污染评价	马宏宏, 余涛, 杨忠芳, 侯青叶, 曾庆良, 王锐 (4684)
秸秆与化肥减量配施对菜地土壤温室气体排放的影响	黄容, 高明, 黎嘉成, 徐国鑫, 吕盛, 罗梅 (4694)
不同肥料施用对设施蔬菜地 NH ₃ 挥发和 N ₂ O 排放的影响	山楠, 韩圣慧, 刘继培, 陈清, 袁玉玲, 王立刚, 李虎 (4705)
施肥类型和水热变化对农田土壤氮素矿化及可溶性有机氮动态变化的影响	田飞飞, 纪鸿飞, 王乐云, 郑西来, 辛佳, 能惠 (4717)
长期不同施肥量对全程氨氧化细菌丰度的影响	王梅, 王智慧, 石孝均, 蒋先军 (4727)
典型绿洲不同土壤类型有机碳含量及其稳定碳同位素分布特征	陈新, 贡璐, 李杨梅, 安申群, 赵晶晶 (4735)
凹凸棒石及其改性材料对土壤镉生物有效性的影响与机制	陈展祥, 陈传胜, 陈卫平, 焦文涛 (4744)
天然有机物活化过硫酸盐降解土壤有机污染物效果	刘琼枝, 廖晓勇, 李尤, 龚雪刚, 曹红英, 罗俊鹏 (4752)
水分管理和外源硒对水稻吸收累积铅的影响	万亚男, 刘哲, Aboubacar Younoussa Camara, 余垚, 王琪, 李花粉 (4759)
窖水中微生物降解污染物的关键细菌	杨浩, 杨晓妮, 张国珍, 王宝山, 张翔, 李健 (4766)
砷氧化菌对胡敏酸络合 As(Ⅲ) 的氧化作用	李泽姣, 崔岩山, 尹乃毅, 蔡晓琳, 都慧丽, 王鹏飞 (4778)
海域高温油田 1 株耐高温耐盐硫酸盐还原菌的筛选与生理特性及活性抑制	杨春璐, 苑美玉, 史荣久, 闫鹏举, 赵峰, 韩斯琴, 张颖 (4783)
1 株耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 <i>Zobellella</i> sp. B307 的分离及脱氮特性	白洁, 陈琳, 黄潇, 胡春辉, 赵阳国, 李岍然 (4793)
1 株镰刀菌属 KY123915 的分离及其对 17β-雌二醇的降解特性	吴蔓莉, 祝长成, 祁燕云, 时艺馨, 徐会宁, 杨瑾如 (4802)
氟喹诺酮对垂直流人工湿地性能及微生物群落的影响	李新慧, 郑权, 李静, 王晓慧, 海热提 (4809)
林可霉素菌渣堆肥微生物群落多样性分析	任省涛, 郭夏丽, 芦阿度, 张倩倩, 郭笑盈, 王岩, 王连忠, 张宝宝 (4817)
DEP 对蚯蚓抗氧化酶系的影响及 DNA 损伤	平令文, 李现旭, 张翠, 宋佩佩, 王金花, 朱鲁生, 王军 (4825)
生活垃圾焚烧灰灰矿物学特性及重金属分布	李建陶, 曾鸣 (4834)
《环境科学》征订启事 (4429) 《环境科学》征稿简则 (4471) 信息 (4529, 4777, 4816)	

长期不同施肥量对全程氨氧化细菌丰度的影响

王梅, 王智慧, 石孝均, 蒋先军*

(西南大学资源环境学院, 重庆 400715)

摘要: 全程氨氧化细菌(*Comammox Nitrospira*)的发现彻底改变了对传统硝化作用的认知, 其在生物地球化学氮循环中可能具有很重要的作用, 并为硝化作用研究提供了新的思路, 故 需要有更多的工作去评估 *Comammox Nitrospira* 在不同生态系统中的分布, 本试验选取西南大学长期定位试验田的 3 种不同施肥量的水稻土, 分别为对照组(blank control)、常规施肥量(NPK)、高量施肥(1.5NPKS)处理土壤, 进行硝化势及硝化微生物尤其是全程氨氧化细菌的测定. 结果表明: ① 3 种施肥量处理土壤中均检测出较高数量级的 *Comammox*, 分支 A(Clade A)丰度(以干土计, 下同)分别为 9.0×10^7 、 1.7×10^8 、 7.2×10^8 copies·g⁻¹, 而分支 B(Clade B)丰度分别为 1.5×10^7 、 1.2×10^7 、 1.7×10^7 copies·g⁻¹. ② 3 种施肥土壤中 AOA 丰度为 $1.5 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^8$ copies·g⁻¹, AOB 丰度分别为 $2.0 \times 10^5 \sim 9.3 \times 10^7$ copies·g⁻¹, 均低于 *Comammox* 丰度, 而不施肥条件下 *Comammox* 丰度与 AOA、AOB 的比值最大, 分别为 7.2、524.4. ③ *Comammox* Clade A 丰度与 *Comammox* Clade B 的比值随施肥量增加而增加, 且比值依次为 6.1、14.4、43.1. ④ NPK、1.5NPKS 两种 N 肥施用量下全程氨氧化细菌分支 A 丰度分别为对照组的 1.9、8.0 倍, 氨氧化古菌(AOA)分别是对照组的 3.2、7.2 倍, 氨氧化细菌(AOB)均比对照组显著增加 2 个数量级; 硝化势也随施肥量增加而增大; 但不同施肥量对分支 B 丰度却无显著影响. 本试验结果表明 *Comammox* 广泛分布于中性紫色水稻土中, 在水稻土中丰度均比 AOA、AOB 高, 因此 *Comammox* 很可能在中性紫色水稻土的硝化作用中有一定贡献; 水稻土中 *Comammox* 以 *Comammox* Clade A 为主.

关键词: 氮循环; 硝化作用; 水稻土; 氨氧化微生物; 亚硝酸盐氧化细菌; 全程氨氧化细菌(*Comammox Nitrospira*)

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)10-4727-08 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201802032

Long-term Fertilization Effects on the Abundance of Complete Ammonia Oxidizing Bacteria(*Comammox Nitrospira*) in a Neutral Paddy Soil

WANG Mei, WANG Zhi-hui, SHI Xiao-jun, JIANG Xian-jun*

(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: The discovery of the complete ammonia-oxidizing microbes, *Comammox Nitrospira*, had fundamentally changed our perspective on traditional nitrification. The microbe also played a potentially under-appreciated role in the biogeochemical N cycle and provided a new dimension for the research of nitrification. To investigate the abundance of *Comammox* in different ecosystems was urgently needed. In the present study, three treatments with different quantities of fertilization in a paddy soil (blank control, NPK and 1.5 NPKS) to investigate the nitrification and *amoA* gene abundance for nitrifying microorganisms, especially for the complete ammonia oxidizing bacteria (*Comammox Nitrospira*). The results showed that: ① Both *Comammox* Clade A and *Comammox* Clade B were detected in all three treatments, and the abundance of *Comammox* Clade A were 9.0×10^7 , 1.7×10^8 , 7.2×10^8 copies·g⁻¹ (dry soil), respectively, and for *Comammox* Clade B were 1.5×10^7 , 1.2×10^7 , 1.7×10^7 copies·g⁻¹ (dry soil), respectively. ② The abundances of both ammonia-oxidizing archaea (AOA) in the three fertilizers was $1.5 \times 10^7 \sim 1.2 \times 10^8$ copies·g⁻¹ (dry soil), and the ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in the three fertilizers was $2.0 \times 10^5 \sim 9.3 \times 10^7$ copies·g⁻¹ (dry soil), lower than the abundance of the *Comammox*. The ratio of *Comammox* to AOA was 7.2, and the ratio for *Comammox* to AOB was 524.4 for blank control, were greater than NPK and 1.5 NPKS treatments. ③ The ratio of *Comammox* Clade A to *Comammox* Clade B showed an increasing trend with the increase in fertilizer application, at 6.1, 14.4 and 43.1, respectively. ④ For NPK and 1.5 NPKS treatments, *Comammox* Clade A *amoA* gene copies were 1.9 and 8.0 times higher than that of the blank control treatment respectively, and the numbers for AOA significantly increased to 3.2 and 7.2 times that of the blank control. The AOB gene copy numbers increased by two orders of magnitude compared with the blank control. In addition, the nitrification potential increased with the increase in N fertilizer application; however, the effects of different fertilizer treatments on *Comammox* Clade B were not significant. Results indicated that *Comammox* was widely distributed in the neutral purple paddy soil and was higher in abundance than AOA or AOB, which implied that *Comammox*-especially Clade A-may contribute to the nitrification of paddy soil.

Key words: nitrogen cycle; nitrification; paddy soil; ammonia-oxidizing microorganism; nitrite-oxidizing bacteria; complete ammonia oxidizing bacteria(*Comammox Nitrospira*)

收稿日期: 2018-02-04; 修订日期: 2018-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(41671232); 国家重点研发计划项目(2016YFD0300901)

作者简介: 王梅(1992~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤生态, E-mail: wangm931@163.com

* 通信作者, E-mail: jiangxj@swu.edu.cn

硝化作用作为自然界中氮素循环调控的重要环节,普遍发生于土壤环境中,对污水处理中的生物学过程及饮用水生产也起着重要作用.而农业土壤中氮肥的施用会进一步促进硝化作用的发生^[1,2],致硝酸盐淋溶损失,造成氮肥的浪费^[3~6]及地下水的硝酸盐污染^[7].

自 19 世纪末^[8],一直认为硝化作用分两步进行——首先是氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB)^[9] 和/或氨氧化古菌 (ammonia-oxidizing archaea, AOA)^[10] 氧化氨为亚硝酸盐,其次亚硝酸盐氧化细菌 (nitrite-oxidizing bacteria, NOB)^[9] 氧化亚硝酸盐为硝酸盐.然而早前有学者^[11,12]曾根据动力学理论上的可行性,提出单步硝化作用的理论即由单一微生物独自完成氨氧化为硝态氮的整个过程.但直到 2015 年底,有学者相继在不同环境中发现能进行单步硝化作用的微生物——已经纯培养的细菌 (*Candidatus Nitrospira nitrosa*、*Candidatus Nitrospira nitrificans*)^[13]、(*Candidatus Nitrospira inopinata*)^[14] 和未经纯培养的细菌 (类 *Nitrospira*)^[15],从而证实了单步硝化作用的存在.这些微生物被定义为全程氨氧化微生物 (Comammox),均属于亚硝酸盐氧化细菌中的硝化螺菌属 (*Nitrospira*).根据已发表的宏基因组数据库中基因序列的比对发现全程氨氧化细菌广泛分布于农业土壤、森林土壤、稻田土壤、淡水环境及工程系统^[13,14].全程氨氧化细菌的发现使学者需要有更多的工作去重新评估土壤中 AOA、AOB 以及 Comammox 在生态系统中的分布及相对贡献.

氮肥施用会促进硝化作用的发生,且与施肥量成正相关^[16,17].佟德利等^[18]对分别施用尿素、硫酸铵、碳酸氢铵这 3 种氮肥及分别不同施用量的试

验中,其结果显示这 3 种氮肥的施用均促进土壤硝化作用,且净硝化速率随施用量增加而增加.本研究选取不施肥的对照组 (blank control)、常规施肥 (NPK)、高量施肥 (1.5NPKS) 这 3 种不同施肥量的农业利用土壤,通过实时荧光定量 PCR 技术分析氨氧化细菌、氨氧化古菌及全程氨氧化细菌丰度对不同施肥量的响应,以期为进一步在土壤环境中展开单步硝化研究奠定基础.

1 材料与方法

1.1 供试土壤

土样均采自西南大学长期定位试验田 (106°24'33"E, 29°48'36"N),海拔 266.3 m,该土壤是由侏罗系沙溪庙组灰棕紫色沙泥岩母质上发育而成的中性紫色水稻土.

本研究选择的 3 个试验处理为 (表 1): blank control (不施肥对照组)、NPK、1.5NPKS (1.5 NPK + 水稻秸秆),其中 N 肥为尿素, P 肥为过磷酸钙, K 肥为氯化钾. 1991 ~ 1996 年每季施肥量为: N 150 kg·hm⁻²、P₂O₅ 75 kg·hm⁻²、K₂O 75 kg·hm⁻²,水稻秸秆 7.5 t·hm⁻². 1996 年秋季之后,每季 P、K 肥用量由原来的 75 kg·hm⁻² 改为 60 kg·hm⁻²;小麦氮肥用量改为 135 kg·hm⁻²,水稻氮肥用量不变.水稻秸秆于每年小麦播种前撒入.水稻和小麦均使用 60% 的 N 肥及全部 P、K 肥作为基肥, 40% N 肥作为分蘖肥. 1991 ~ 2017 年一直采用稻-麦轮茬制.

本试验点自 1991 年始,没有设立重复小区,但小区面积较大 (120 m²),故将小区均分为 3 个区域即 3 次假重复,每区域选取 4 m × 5 m 样方的表层土以保障数据的准确性.

表 1 基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of fertilizer treatments

项目	pH	有机质/g·kg ⁻¹	全氮/g·kg ⁻¹	铵态氮/mg·kg ⁻¹	硝态氮/mg·kg ⁻¹
对照组	7.9	8.4	1.1	9.2	3.2
NPK	7.2	12.5	1.5	18.6	4.2
1.5NPKS	7.0	17.3	1.8	23.6	4.0

1.2 研究方法

采样时间为 2017 年 12 月,选取 0 ~ 20 cm 表层土壤作为研究对象,土样采回后,去掉植物根系等杂质,分两部分保存:一部分土样采用鲜土过 2 cm 筛后立即进行土壤硝化势的测定和土壤 DNA 的提取,另一部分则风干研磨过 0.25 mm、1 mm 筛用于

测定其基本理化性质.

1.2.1 化学分析方法

土壤 pH 值于 1:2.5 土水比条件下,采用梅特勒 LE 438 复合电极 (梅特勒-托利多仪器有限公司,上海,中国) 进行测定;土壤有机质采用重铬酸钾容量法测定;全氮采用改进的凯氏法测定;土壤硝

态氮和铵态氮均采用流动分析仪测定 (AA3 全自动连续流动分析仪, SEAL Analytical, 德国). 所有样品均设置 3 次重复.

硝化势测定按鲁如坤所述 (悬浮液培养法) 稍作修改^[19]: 称取 15 g 鲜土于 250 mL 三角瓶中, 加入 100 mL 液体培养基 ($1.5\text{ mL } 0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KH}_2\text{PO}_4$, $3.5\text{ mL } 0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ K}_2\text{HPO}_4$ 与 $15\text{ mL } 0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 到 1 L 容量瓶, 混匀并用 $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NaOH}$ 调至 pH 7.2), 用带气孔的橡皮塞塞紧后置于振荡器上振荡 24 h ($200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 25°C), 并于 2、4、22、24 h 取样测定 NO_3^- -N 含量; 另按上述土: 水比测定原始土壤中 NO_3^- -N 含量, 均 2 次重复. 以培养时间为横坐标, NO_3^- -N 含量为纵坐标, 求出斜率, 即土壤硝化势 [$\text{mg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$].

1.2.2 定量 PCR 分析方法

首先, 采用 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, LLC) 试剂盒、并按试剂盒操作说明提取土壤微生物总 DNA, 并于 -20°C 保存待测. 随后, 采用实时荧光定量 PCR 法在 QuantStudio[™] 6 Flex 定量 PCR 仪 (Thermo Fisher Scientific,

Singapore) 上测定氨氧化细菌 (AOB)、氨氧化古菌 (AOA) 及全程氨氧化菌 Comammox Clade A 和 Clade B *amoA* 基因的拷贝数. AOB、AOA、Comammox Clade A、Comammox Clade B 的 *amoA* 基因定量 PCR 所用扩增引物见表 2. AOB、AOA、Comammox Clade A、Comammox Clade B 的 *amoA* 基因定量 PCR 所用反应体系均为 20 μL , 主要包含: 待扩增的模板 DNA 1 μL 、上下引物及 ROX 染料各 0.4 μL , *Taq* DNA 聚合酶 10 μL 、灭菌水 7.8 μL . AOA *amoA* 基因定量 PCR 扩增条件为: 95°C , 1.5 min; $40\times(95^\circ\text{C}, 30\text{ s}; 55^\circ\text{C}, 45\text{ s}; 72^\circ\text{C}, 45\text{ s with plate read})$; Melt curve 60.0°C to 95.0°C , increment 0.5°C , 0: 05 + plate read. AOB 扩增条件为: 95°C , 3.0 min; $38\times(95^\circ\text{C}, 30\text{ s}; 60^\circ\text{C}, 1.5\text{ min with plate read})$; Melt curve 60.0°C to 95.0°C , increment 0.5°C , 0: 05 + plate read. Comammox Clade A、Comammox Clade B 的 *amoA* 基因定量 PCR 扩增条件均为: 95°C , 3.0 min; $45\times(95^\circ\text{C}, 30\text{ s}; 52^\circ\text{C}, 45\text{ s}; 72^\circ\text{C}, 1\text{ min with plate read})$; Melt curve 60.0°C to 95.0°C , increment 0.5°C , 0: 05 + plate read.

表 2 AOB、AOA、Comammox Clade A、Comammox Clade B *amoA* 基因的引物序列
Table 2 Primers for AOB, AOA, Comammox Clade A, and Comammox Clade B *amoA* genes

基因名称	引物序列 (5'-3')	文献
氨氧化细菌 AOB <i>amoA</i> 基因	amoA-1F (CGGCTTTCTACTGGTGGT) amoA-2R (CGCCTCKGSAAGCCTTCTTC)	[20]
氨氧化古菌 AOA <i>amoA</i> 基因	Arch-amoAF (STAATGCTCTGGCTTAGACG) Arch-amoAR (CGGCGCATCCATCTGTATGT)	[21]
Comammox Clade A <i>amoA</i> 基因	comaA-244f_a TACAAC TGGGTGA ACTA comaA-244f_b TATAAC TGGGTGA ACTA comaA-244f_c TACAATTGGGTGA ACTA comaA-244f_d TACAAC TGGGTCA ACTA comaA-244f_e TACAAC TGGGTCA ATTA comaA-244f_f TATAAC TGGGTCA ATTA comaA-659r_a AGATCATGGTGCTATG comaA-659r_b AAATCATGGTGCTATG comaA-659r_c AGATCATGGTGCTGTG comaA-659r_d AAATCATGGTGCTGTG comaA-659r_e AGATCATCGTGCTGTG comaA-659r_f AAATCATCGTGCTGTG	[22]
Comammox Clade B <i>amoA</i> 基因	comaB-244f_a TAYTTCTGGACGTTCTA comaB-244f_b TAYTTCTGGACATTCTA comaB-244f_c TACTTCTGGACTTTCTA comaB-244f_d TAYTTCTGGACGTTTTA comaB-244f_e TAYTTCTGGACATTTTA comaB-244f_f TACTTCTGGACCTTCTA comaB-659r_a ARATCCAGACGGTG TG comaB-659r_b ARATCCAAACGGTG TG comaB-659r_c ARATCCAGACAGTG TG comaB-659r_d ARATCCAAACAGTG TG comaB-659r_e AGATCCAGACTGTG TG comaB-659r_f AGATCCAAACAGTG TG	[22]

通过液体 LB 培养基培养的含有目的基因的克隆子, 按试剂盒 (MiniBEST Plasmid Purification Kit) 说明书提取、纯化质粒后, 首先对质粒进行测序验证, 然后在 NanoDrop[®] ND-1000 UV-Vis 分光光度计上测定质粒的浓度, 并计算出目的基因的拷贝数. 最后用 TE 缓冲溶液将质粒连续稀释 6~8 个梯度以制作定量 PCR 的标准曲线. 其中, 所用的 Comammox Clade A 质粒片段为: TTATAACTGG GTGAACTATCGACAACCGTTTGGAGCAACCATAAC C

ATTCTGGCACTCCTCGCAGGAAAGTGGGTACCGGTTA TTGCCGCTTGGTGGTGGTGGTCCAACTATCCGTATAA CTTCGTCATGCCCCGCACTTTGCTCCCCAGCGCATTG GTCATGGACATCGTTCTGTTGCTGACCCGAAGCTGGG TGACCACAGCGGTGGTTGGAGCATGGCTGTTCCGACG CGCTGTTCTACCCGACCAACTGGGCTTTATTCGGGTA CAGCAAGACACCGATCGTCGTGGATGGGACACTGCT CTCTTGGGCCGACTATATGGGCTTCGTGTATGTCCGT ACCGGAACCCCTGAATATATCCGGCTGATCGAGGTG

GGGTCACTTCGCACGTTCCGGCGGACACAGCAGCATG
ATCT; 所用的 Comammox Clade B 质粒片段为:
AAATCCAGACGGTGTGTATGCCGAACGTACGAAGCG
ATCCCACCTCGATGATCCGGATATACTCAGGCGTCC
CGGTACGAACATACGTAAACCCCATGTAGTCGGCCA
GCGAGAGAAGCTGACCGTCGACCACCAACGGTTGG
TGGCTATATCCGAAGAGAGCATATTGCGTTGGATTA
AACATCATTGCGAATGCCAGACCCCGAATATCGCA
GTGAGCATCCAGCTTCGAGTCAGTAACAGGGTACAG
TCGAGGATCAATGCGCTGGAGACCATGGTGGCTGGC
ATAACGAAGTTCATCGGGAAATTGGCCCACCAATAC
CAAGCAAATACAATCGTGATCCACTTCCCGACGAGG
AGCCCCGTGATGCTCAACGTTGCACCAAACGGTTGC
CTGTAGAACGTCCAGAAGTA.

1.3 数据处理与统计分析

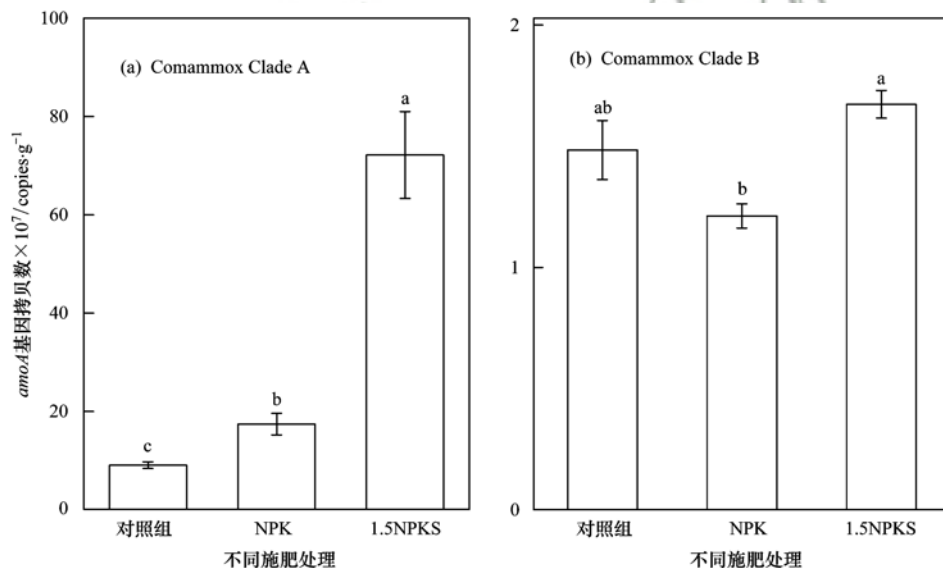
所有数据均采用 Microsoft Excel 2016 和 SPSS 18 进行统计分析. 采用单因素 (one-way ANOVA)、Duncan 法进行方差分析及多重比较 ($\alpha = 0.05$). 利用 Origin 8.5 软件作图. 图表中数据为平均值 $\pm$

标准差.

2 结果与分析

2.1 不同施肥量处理下全程氨氧化细菌 (Comammox *Nitrospira*) 丰度

全程氨氧化细菌分支 A (Comammox Clade A) 和分支 B (Comammox Clade B) 丰度随施肥量的变化情况如图 1 所示. 如图 1(a), 与对照组相比, NPK 和 1.5NPKS 处理土壤 Comammox Clade A *amoA* 基因拷贝数均显著增加, 分别为对照组基因拷贝数 (以干土计, 下同) ($9.0 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$) 的 1.9 和 8.0 倍, 说明施肥能显著提高 Comammox Clade A *amoA* 基因拷贝数, 且随施肥量增加, 其丰度增加显著. 而 Comammox Clade B *amoA* 基因拷贝数在对照组、NPK、1.5NPKS 这 3 种不同施肥量中差异不显著 [图 1(b)], 且比 Comammox Clade A 低一个数量级, 3 种处理中 Clade B *amoA* 基因拷贝数分别为 1.5×10^7 、 1.2×10^7 、 $1.7 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 说明施肥处理对 Clade B *amoA* 基因拷贝数无显著影响.



误差线表示标准差, 不同小写字母表示不同施肥处理显著性差异 ($n=3$, $P<0.05$), 下同

图 1 不同施肥量管理下 Comammox Clade A、Comammox Clade B *amoA* 基因拷贝数

Fig. 1 Comammox Clade A and Comammox Clade B *amoA* gene copies under different fertilizer treatments

2.2 不同施肥量处理下氨氧化细菌 (AOA) 和氨氧化古菌 (AOB) 丰度

由图 2 可以看出, NPK、1.5NPKS 这 2 种施肥处理土壤均显著增加 AOA *amoA* 基因拷贝数, 分别增加到对照组的 3.2、7.2 倍 [图 2(a)]; AOB 由对照组的 $2.0 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 分别增加到 $6.1 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $9.3 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 均提高两个数量级 [图 2(b)]; 其次, 1.5 NPKS 处理 AOA、AOB 丰

度均显著高于 NPK 处理土壤. 说明 AOA、AOB 受施肥影响显著, 随施肥量增加而显著增加.

2.3 硝化势对不同施肥量的响应

如图 3 所示, 不同施肥量处理间其硝化势差异显著 ($P<0.05$). 1.5NPKS 处理硝化势 (以干土中含有硝态氮的氮含量计, 下同) 达到对照组 [$(6.82 \pm 1.20) \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$] 的 9.1 倍, 是 NPK 处理硝化势 [$(44.87 \pm 5.63) \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$] 的 1.4 倍. 可

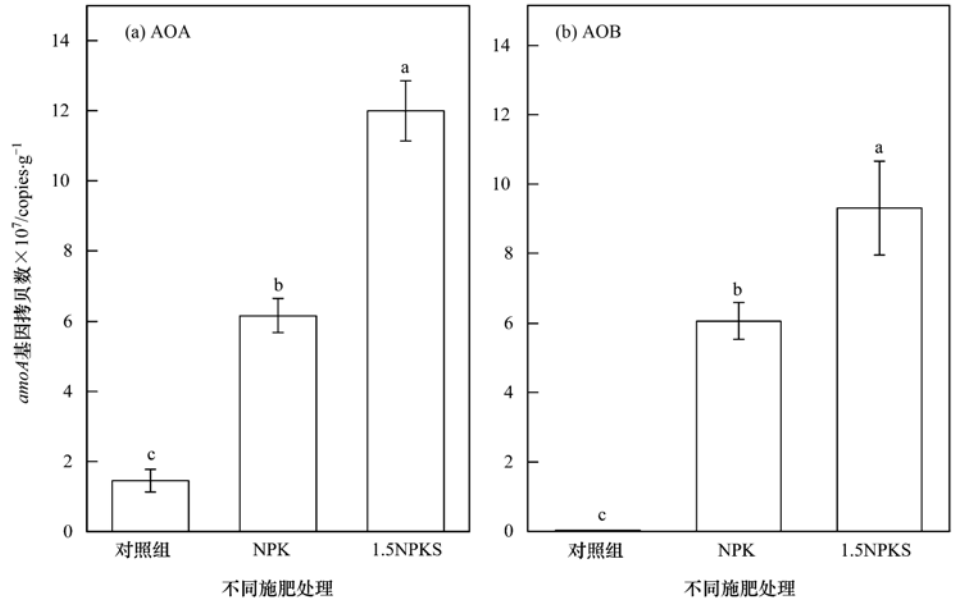


图2 不同施肥量管理下 AOA、AOB *amoA* 基因拷贝数

Fig. 2 Ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and archaea (AOA) *amoA* gene copies under different fertilizer treatments

见, 施肥处理硝化势显著高于不施肥处理土壤, 且随着施肥量增加而硝化势显著增强, 说明施肥显著提高耕作土壤的硝化作用, 与前人的研究报道相似^[16~18].

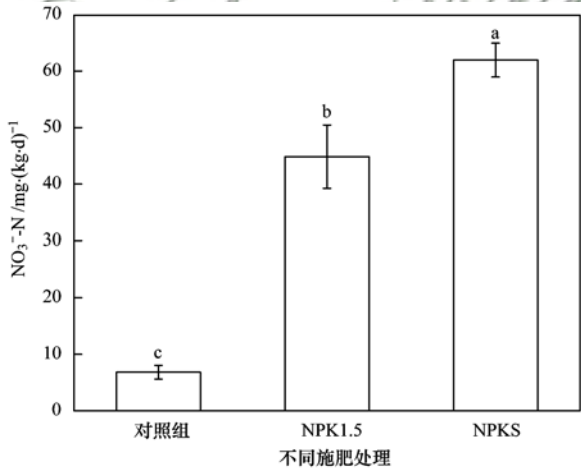


图3 不同施肥量管理下土壤硝化势

Fig. 3 Soil nitrification potential under different fertilizer treatments

3 讨论

有学者根据已发表的宏基因组数据库中 DNA 序列比对后推测, 全程氨氧化微生物可能广泛分布于土壤、水等生态环境中^[13~15,23]. 本研究在对照组、常规施肥(NPK)、高量施肥(1.5NPKS)这3种不同施肥量的稻田土壤中, 都检测出高数量级的全程氨氧化细菌(Comammox) *amoA* 基因拷贝数, 分支 A (Comammox Clade A) 与分支 B (Comammox Clade B) *amoA* 基因拷贝数分别为 $9.0 \times 10^7 \sim 7.2 \times 10^8$

copies·g⁻¹、 $1.2 \times 10^7 \sim 1.7 \times 10^7$ copies·g⁻¹, 进一步证实全程氨氧化细菌与氨氧化细菌(AOA)和氨氧化古菌(AOB)一样, 广泛分布于农田土壤中. 其次, 3种施肥量土壤中 Comammox *amoA* 基因拷贝数(分支 A 与分支 B 之和)与 AOA、AOB 的比值及 AOA 与 AOB 的比值均大于 1(表 3), 表明在 3 种不同施肥量水稻土中均是全程氨氧化细菌 *amoA* 基因拷贝数最高, 其次是氨氧化古菌, 而氨氧化细菌最低. 表明全程氨氧化细菌在中性紫色水稻土的硝化微生物中占有比 AOA、AOB 更大的比例.

氨氧化古菌曾被证明在低氮的贫营养条件下, 对硝化作用贡献更大, 而氨氧化细菌在高氮量条件下对硝化作用起主导作用^[24~26]. 有研究发现在 pH 为 5.6 的酸性水稻土中, 氨氧化古菌在硝化作用起主导作用^[27], 中性紫色土中硝化作用则是由氨氧化细菌和氨氧化古菌共同推动^[28], 而在 pH 为 8.2 的石灰性水稻土中硝化作用由氨氧化细菌起主导作用^[27]. 然而最近的研究发现全程氨氧化细菌 *Candidatus Nitrospira inopinata* 比可培养的大多数氨氧化古菌对氨具有更高的亲和力. Kits 等^[29]通过氨氧化的动力学分析发现 *Nitrospira inopinata* 可在氨浓度为 $0.049 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时进行生长, 而培养的 3 种氨氧化古菌 *Nitrososphaera gargensis*、*Nitrososphaera viennensis*、*Candidatus Nitrosotenuis uzonensis* 可适应的极低氨浓度分别为 0.7 、 0.36 、 $4.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 此外, 也有研究表明 Comammox *Nitrospira* 在低氧、磷、铜等贫瘠的低营养条件下亦能缓慢生长.

Palomo 等^[23]发现全程氨氧化细菌具有 β -AOB 不具备的能编码允许在低浓度氧气下高效生长的基因; 还有研究发现其基因组含有可在磷不足和饥饿下高度表达的碱性磷酸酶 (phoD)^[30,31], 而这是 AOA 基因组中未检测到的且 β -AOB 中也不普遍存在的^[27]. 本研究结果显示, 在不施肥的对照组中

Comammox *amoA* 基因拷贝数 (分支 A 与分支 B 之和) 与 AOA、AOB 的比值分别为 7.2、524.4 (表 3), 说明在不施肥的耕作土壤中全程氨氧化细菌 (Comammox) 丰度比耐贫营养条件的氨氧化古菌更高, 比氨氧化细菌高甚至两个数量级, 表明全程氨氧化细菌比 AOA、AOB 更适应低氮条件.

表 3 不同施肥管理下各硝化菌 *amoA* 基因拷贝数之比情况

Table 3 Nitrifying microorganisms and *amoA* gene copy ratios under different fertilizer treatments

项目	AOA/AOB	Comammox Clade A/AOA	Comammox Clade B/AOA	Comammox /AOA	Comammox Clade A/AOB	Comammox Clade B/AOB	Comammox /AOB	Comammox Clade A /Comammox Clade B
对照组	72.6	6.2	1.0	7.2	450.5	73.9	524.4	6.1
NPK	1.0	2.8	0.2	3.0	2.9	0.2	3.1	14.4
1.5NPKS	1.3	6.0	0.1	6.2	7.8	0.2	7.9	43.1

Pjevac 等^[22]在水稻土 (采自意大利维切里) 中检测到全程氨氧化细菌分支 A (Comammox Clade A)、分支 B (Comammox Clade B) 丰度数量级 (以 DNA 计, 下同) 均为 10^2 ng^{-1} , 相当于 10^{11} g^{-1} , 但分支 A 丰度略高于分支 B. 本研究中 Comammox Clade A 丰度与 Comammox Clade B 的比值在 3 种施肥量土壤中均远大于 1, 且由对照组的 6.1 增加到 1.5NPKS 的 43.1 (表 3); 同时结合图 1, 即结果显示为 Comammox Clade A 对施肥更敏感, 随施肥量增加而增加, 而 Comammox Clade B 却无显著变化. 表明在中性紫色水稻土中全程氨氧化细菌以分支 A (Comammox Clade A) 为主.

土壤微生物受不同施肥管理^[32,33]的影响, 而土壤硝化作用是土壤中仅由微生物完成的生物学过程, 因此土壤硝化作用严格受施肥管理的影响, 随施肥而土壤硝化势增强^[34,35]. 氮肥施用可增加氨氧化微生物丰度, Zhou 等^[36]对不同施肥处理的水稻土的研究表明, 与对照组 (不施肥) 或无 N 素的肥料处理相比, 施用 N 肥处理能显著增加氨氧化细菌的基因拷贝数. 通过 DNA-SIP 微域培养试验发现, 长期施肥不仅改变氨氧化细菌 (AOB) 和氨氧化古菌 (AOA) 的相对丰度, 对其中“活跃的”AOA、AOB 类群也产生较大影响^[37]. 本试验结果显示与对照组相比, 长期施肥后氨氧化细菌、氨氧化古菌及全程氨氧化细菌分支 A 的丰度 (图 1 和图 2) 均显著增加; 对比常规施肥 (NPK) 和高量施肥 (1.5NPKS) 处理土壤 (表 3), 结果显示 1.5NPKS 处理土壤中 Comammox 丰度与 AOA、AOB 的比值及 AOA 与 AOB 的比值分别为 NPK 处理中比值的 2.0、2.6、1.3 倍. 虽然高量施肥处理中施用了秸秆, 但有研究发现 *cry1Ac/cpti* 双价抗虫基因水稻的

秸秆还田降解对土壤氮素转化关键微生物群落丰度与组成均无明显影响^[38], 故表明随施肥量增加其丰度增加更显著, 硝化势变化趋势也与此一致 (图 3). 故推测全程氨氧化细菌很可能在中性紫色水稻土的硝化作用中起作用, 尤其是 Comammox Clade A. 这或许可以解释以前有学者将水稻土在适宜硝化作用的条件下用 $^{13}\text{CO}_2$ 处理后, 从硝化螺菌属 (*Nitrospira*) 中提取到的 DNA 被标记的程度要大于 AOA 和 AOB 的原因^[39].

4 结论

(1) 本试验在 3 种施肥量的水稻土中均检测到高数量级的全程氨氧化细菌 (Comammox *Nitrospira*), 表明全程氨氧化细菌广泛分布于中性紫色水稻土中.

(2) 在中性紫色水稻土中, 全程氨氧化细菌有比氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 更高的丰度, 尤其是在不施肥的贫营养环境中, 其丰度甚至是耐贫营养条件的氨氧化古菌丰度的 7.2 倍.

(3) 全程氨氧化细菌分支 A (Comammox Clade A) 随施肥量增加有显著增加趋势, 与硝化势、AOA、AOB 变化趋势一致, 而全程氨氧化细菌分支 B (Comammox Clade B) 受施肥影响不显著.

(4) 中性紫色水稻土中全程氨氧化细菌以 Clade A 为主.

参考文献:

[1] 蔡祖聪, 赵维. 土地利用方式对湿润亚热带土壤硝化作用的影响[J]. 土壤学报, 2009, 46(5): 795-801.
Cai Z C, Zhao W. Effects of land use types on nitrification in humid subtropical soils of China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2009, 46(5): 795-801.
[2] 于涌杰. 土地利用方式对中国东南部红壤微生物特性及氮转化作用的影响[D]. 南京: 南京师范大学, 2012.

- Yu Y J. Effect of land-use types on microbial properties and nitrogen transformation in red soils of Southeastern China [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2012.
- [3] Oenema O, van Lier L, Schoumans O. Effects of lowering nitrogen and phosphorus surpluses in agriculture on the quality of groundwater and surface water in the Netherlands [J]. *Journal of Hydrology*, 2005, **304**(1-4): 289-301.
- [4] Zhang W L, Tian Z X, Zhang N, *et al.* Nitrate pollution of groundwater in northern China [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 1996, **59**(3): 223-231.
- [5] Galloway J N, Dentener F J, Capone D G, *et al.* Nitrogen cycles: past, present, and future [J]. *Biogeochemistry*, 2004, **70**(2): 153-226.
- [6] Randall G W, Vetsch J A, Huffman J R. Nitrate losses in subsurface drainage from a corn-soybean rotation as affected by time of nitrogen application and use of nitrification inhibitors [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2003, **32**(5): 1764-1772.
- [7] 朱兆良, David N, 孙波. 中国农业面源污染控制对策 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2006.
- Zhu Z L, David N, Sun B. Policy for reducing non-point pollution from crop production in China [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2006.
- [8] Winogradsky S. The morphology of the contributions of nitrification system [J]. *Archives of Biological Sciences*, 1890, **4**: 257-275.
- [9] Bock E, Wagner M. Oxidation of inorganic nitrogen compounds as an energy source [A]. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, *et al.* (eds.). *The Prokaryotes* [C]. New York: Springer, 2006: 457-495.
- [10] Könneke M, Bernhard A E, de la Torre J R, *et al.* Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon [J]. *Nature*, 2005, **437**(7058): 543-546.
- [11] 郑平, 冯孝善. 硝化作用的生化原理 [J]. *微生物学通报*, 1999, **26**(3): 215-217.
- Zheng P, Feng X S. Biochemical principles of nitrification [J]. *Microbiology China*, 1999, **26**(3): 215-217.
- [12] Costa E, Pérez J, Kreft J U. Why is metabolic labour divided in nitrification? [J]. *Trends in Microbiology*, 2006, **14**(5): 213-219.
- [13] van Kessel M A H J, Speth D R, Albertsen M, *et al.* Complete nitrification by a single microorganism [J]. *Nature*, 2015, **528**(7583): 555-559.
- [14] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, *et al.* Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria [J]. *Nature*, 2015, **528**(7583): 504-509.
- [15] Pinto A J, Marcus D N, Ijaz U Z, *et al.* Metagenomic evidence for the Presence of Comammox *Nitrospira*-like bacteria in a drinking water system [J]. *MSphere*, 2016, **1**(1): e00054-15.
- [16] Martikainen P J. Nitrification in two coniferous forest soils after different fertilization treatments [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1984, **16**(6): 577-582.
- [17] Martikainen P J. Nitrification in forest soil of different pH as affected by urea, ammonium sulphate and potassium sulphate [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, **17**(3): 363-367.
- [18] 佟德利, 徐仁扣. 三种氮肥对红壤硝化作用及酸化过程影响的研究 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, **18**(4): 853-859.
- Tong D L, Xu R K. Effects of urea, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and NH_4HCO_3 on nitrification and acidification of a red soil [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2012, **18**(4): 853-859.
- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [20] Beman J M, Francis C A. Diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the sediments of a hypernitrified subtropical estuary: Bahía del Tóbari, Mexico [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(12): 7767-7777.
- [21] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1997, **63**: 4704-4712.
- [22] Pjevac P, Schaubberger C, Poghosyan L, *et al.* *AmoA*-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox *Nitrospira* in the environment [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, **8**: 1508.
- [23] Palomo A, Pedersen A G, Fowler S J, *et al.* Comparative genomics sheds light on niche differentiation and the evolutionary history of comammox *Nitrospira* [J]. *The ISME Journal*, 2018, **12**: 1779-1793.
- [24] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, *et al.* Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils [J]. *The ISME Journal*, 2012, **6**(5): 1032-1045.
- [25] Xia W W, Zhang C X, Zeng X W, *et al.* Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil [J]. *The ISME Journal*, 2011, **5**(7): 1226-1236.
- [26] Verhamme D T, Prosser J I, Nicol G W. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms [J]. *The ISME Journal*, 2011, **5**(6): 1067-1071.
- [27] Jiang X J, Hou X Y, Zhou X, *et al.* pH regulates key players of nitrification in paddy soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **81**: 9-16.
- [28] 闫小娟. 三种紫色土硝化作用及其硝化微生物的研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2016.
- Yan X J. Research on nitrification and nitrifying microorganisms of three purple soils [D]. Chongqing: Southwest University, 2016.
- [29] Kits K D, Sedlacek C J, Lebedeva E V, *et al.* Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle [J]. *Nature*, 2017, **549**(7671): 269-272.
- [30] Kageyama H, Tripathi K, Rai A K, *et al.* An alkaline phosphatase/phosphodiesterase, PhoD, induced by salt stress and secreted out of the cells of *Aphanothece halophytica*, a halotolerant cyanobacterium [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, **77**(15): 5178-5183.
- [31] Shen Y C, Hu Y N, Shaw G C. Expressions of alkaline phosphatase genes during phosphate starvation are under positive influences of multiple cell wall hydrolase genes in *Bacillus subtilis* [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2016, **62**(2): 106-109.
- [32] Lupwayi N Z, Lafond G P, Ziadi N, *et al.* Soil microbial response to nitrogen fertilizer and tillage in barley and corn [J]. *Soil and Tillage Research*, 2012, **118**: 139-146.
- [33] Sradnick A, Murugan R, Oltmanns M, *et al.* Changes in functional diversity of the soil microbial community in a

- heterogeneous sandy soil after long-term fertilization with cattle manure and mineral fertilizer[J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, **63**: 23-28.
- [34] Chu H Y, Fujii T, Morimoto S, *et al.* Community structure of ammonia-oxidizing bacteria under long-term application of mineral fertilizer and organic manure in a sandy loam soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(2): 485-491
- [35] Wertz S, Leigh A K, Grayston S J. Effects of long-term fertilization of forest soils on potential nitrification and on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, **79**(1): 142-154.
- [36] Zhou Z F, Shi X J, Zheng Y, *et al.* Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, **60**: 24-33.
- [37] 王欣丽. 酸性红壤氨氧化微生物群落分布和功能及其驱动因子[D]. 南京: 南京师范大学, 2014.
- [38] 王沛讓, 徐焱, 宋亚娜. 转基因水稻秸秆还田对土壤硝化反硝化微生物群落的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2018, **26**(1): 8-15.
- Wang P X, Xu Y, Song Y N. Effect of transgenic rice straw return to soil on nitrification and denitrification microbial community[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2018, **26**(1): 8-15.
- [39] Wang B Z, Zhao J, Guo Z Y, *et al.* Differential contributions of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers to nitrification in four paddy soils[J]. *The ISME Journal*, 2015, **9**(5): 1062-1075.

环境科学

CONTENTS

Ratios of Volatile Organic Compounds in Ambient Air of Various Cities of China	WANG Ming, CHEN Wen-tai, LU Si-hua, <i>et al.</i> (4393)
Temporal Variation, Spatial Distribution, and Reactivity Characteristics of Air VOCs in Beijing 2015	ZHANG Bo-tao, AN Xin-xin, WANG Qin, <i>et al.</i> (4400)
Research and Application of the Technical Method for the Compilation of VOCs Emission Inventories from Architectural Coatings in Beijing	DENG Zi-yu, GAO Mei-ping, WANG Qing-wei, <i>et al.</i> (4408)
Content Levels and Compositions Characteristics of Volatile Organic Compounds(VOCs) Emission from Architectural Coatings Based on Actual Measurement	GAO Mei-ping, DENG Zi-yu, NIE Lei, <i>et al.</i> (4414)
Characteristics of Primary Pollutants of Air Quality in Cities Along the Taihang Mountains in Beijing-Tianjin-Hebei Region During 2014-2016	WANG Xiao-yan, WANG Shuai, ZHU Li-li, <i>et al.</i> (4422)
Seasonal Variation and Source Analysis for PM _{2.5} , PM ₁ and Their Carbonaceous Components in Beijing	FAN Xiao-chen, LANG Jian-lei, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (4430)
Chemical Constitution and Carbon Isotopic Compositions of PM _{2.5} in the Northern Suburb of Nanjing in Spring	ZHOU Yi-ming, HAN Xun, WANG Jin-jin, <i>et al.</i> (4439)
Analysis of Non-polar Organic Compounds in PM _{2.5} by Rapid Thermo-desorption Method Coupled with GC/MS	MA Ying-ge, WU Xia, PENG Meng-meng, <i>et al.</i> (4446)
Association Between Fine Particulate Matter and Asthma Hospital Outpatient Visits in Hangzhou	WANG An-xu, CHEN Xi, SONG Cong-bo, <i>et al.</i> (4457)
Hybrid Electric Bus SCR System Operation and NO _x Emission Characteristics Based on Remote Communication Technology	YANG Qiang, HU Qing-yao, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (4463)
Selection of Priority Contaminants in a Watershed Using Risk Ranking Methodology	LI Qi-feng, LÜ Yong-long, WANG Pei, <i>et al.</i> (4472)
Characteristics and Sources of Atmospheric Inorganic Nitrogen Wet Deposition in Xueyu Cave Watershed, Outer Suburbs of Chongqing City	DUAN Shi-hui, JIANG Yong-jun, ZHANG Yuan-zhu, <i>et al.</i> (4479)
Characteristics of Nitrogen Deposition in Heilongjiang Liangshui National Nature Reserve	SONG Lei, TIAN Peng, ZHANG Jin-bo, <i>et al.</i> (4490)
Key Production Process of Nitrous Oxide and Nitrogen Sources in Tuojia River	ZHAO Qiang, LÜ Cheng-wen, QIN Xiao-bo, <i>et al.</i> (4497)
Impact of Biochar on Nitrogen Removal and Nitrous Oxide Emission in Aerated Vertical Flow Constructed Wetland	WANG Ning, HUANG Lei, LUO Xing, <i>et al.</i> (4505)
Physiological Responses of Ryegrass in Cadmium-Nonylphenol Co-contaminated Water and the Phytoremediation Effects	SHI Guang-yu, LI Zhong-yi, ZHANG Lu, <i>et al.</i> (4512)
Analysis of Absorption Characteristics of Urban Black-odor Water	DING Xiao-lei, LI Yun-mei, LÜ Heng, <i>et al.</i> (4519)
Seasonal Variations of DOM Spectral Characteristics in the Surface Water of the Upstream Minjiang River	FAN Shi-yu, QIN Ji-hong, LIU Yan-yang, <i>et al.</i> (4530)
Water Quality and Three-Dimensional Fluorescence of Stormwater Runoff from Lined Bioretention Field Cells	LIN Xiu-yong, WANG Shu-min, LI Qiang, <i>et al.</i> (4539)
Nitrate-Nitrogen Pollution Sources of an Underground River in Karst Agricultural Area Using ¹⁵ N and ¹⁸ O Isotope Technique	SHENG Ting, YANG Ping-heng, XIE Guo-wen, <i>et al.</i> (4547)
Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter in Landfill Groundwater	PENG Li, YU Min-da, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (4556)
Adsorption Behavior of Phosphate from Water on Zirconium-loaded Granular Zeolite-amended Sediment	LIANG Shu-jing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (4565)
Control of Coagulant Dosing for Humic Substances Based on Ultraviolet Spectrum Analysis	ZHANG Bei-chen, ZHANG Xiao-lei, QIN Lan-lan, <i>et al.</i> (4576)
Reduction of Wastewater Organic Micro-pollutants and Genotoxicity in a Hybrid Process Involving Anaerobic-anoxic-oxic and Ozonation Treatments	LI Mo, WANG Zhen-zhe, CHEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (4584)
Distribution and Removal of Antibiotic Resistance Genes in Two Sequential Wastewater Treatment Plants	LI Ao-lin, CHEN Li-jun, ZHANG Yan, <i>et al.</i> (4593)
Effect of Magnetic Chitosan Hydrogel Beads with Immobilized Feamnox Bacteria on the Removal of Ammonium from Wastewater	LIU Zhi-wen, CHEN Chen, PENG Xiao-chun, <i>et al.</i> (4601)
Enhanced Nitrogen and Carbon Removal Performance of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification (SAD) with Trehalose Addition Treating Saline Wastewater	YANG Zhen-lin, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (4612)
Characteristics of Denitrifying Phosphorus Removal by A ² /O-BAF at Low Temperatures	HUANG Jian-ming, ZHAO Zhi-chao, ZHENG Long-ju, <i>et al.</i> (4621)
Characteristics of Advanced Treatment of Treated Petrochemical Water by O ₃ -BAC and Analysis of Consortium Structure	ZHANG Chao, SHAN Ming-hao, XU Dan-ning, <i>et al.</i> (4628)
Microbial Community Characteristics of Shortcut Nitrification Start-up in Different MBR-Inoculated Sludges	WU Peng, CHEN Ya, ZHANG Ting, <i>et al.</i> (4636)
Effect of Microbial Community Structure and Metabolites on Sludge Settling Ability Under Three Different Switching Condition Processes	WEN Dan-dan, YUAN Lin-jiang, CHEN Xi, <i>et al.</i> (4644)
Adsorption Mechanisms of Ciprofloxacin by Extracellular Polymeric Substances of Sulfate-reducing Bacteria Sludge	ZHANG Hui-qun, JIA Yan-yan, FANG He-ting, <i>et al.</i> (4653)
Rapid Improvement of Denitrification Performance of Embedded Activated Sludge and Community Analysis	YANG Hong, XU Fu, MENG Chen, <i>et al.</i> (4661)
Spatial-Temporal Trends and Pollution Source Analysis for Heavy Metal Contamination of Cultivated Soils in Five Major Grain Producing Regions of China	SHANG Er-ping, XU Er-qi, ZHANG Hong-qi, <i>et al.</i> (4670)
Spatial Interpolation Methods and Pollution Assessment of Heavy Metals of Soil in Typical Areas	MA Hong-hong, YU Tao, YANG Zhong-fang, <i>et al.</i> (4684)
Effect of Straw Residues in Combination with Reduced Fertilization Rate on Greenhouse Gas Emissions from a Vegetable Field	HUANG Rong, GAO Ming, LI Jia-cheng, <i>et al.</i> (4694)
Emission of NH ₃ and N ₂ O from Spinach Field Treated with Different Fertilizers	SHAN Nan, HAN Sheng-hui, LIU Ji-pei, <i>et al.</i> (4705)
Effects of Various Combinations of Fertilizer, Soil Moisture, and Temperature on Nitrogen Mineralization and Soluble Organic Nitrogen in Agricultural Soil	TIAN Fei-fei, JI Hong-fei, WANG Le-yun, <i>et al.</i> (4717)
Long-term Fertilization Effects on the Abundance of Complete Ammonia Oxidizing Bacteria(<i>Comammox Nitrospira</i>) in a Neutral Paddy Soil	WANG Mei, WANG Zhi-hui, SHI Xiao-jun, <i>et al.</i> (4727)
Spatial Variation of Soil Organic Carbon and Stable Isotopes in Different Soil Types of a Typical Oasis	CHEN Xin, GONG Lu, LI Yang-mei, <i>et al.</i> (4735)
Effect and Mechanism of Attapulgite and Its Modified Materials on Bioavailability of Cadmium in Soil	CHEN Zhan-xiang, CHEN Chuan-sheng, CHEN Wei-ping, <i>et al.</i> (4744)
Persulfate Oxidation Effect of Soil Organic Pollutants by Natural Organic Matters	LIU Qiong-zhi, LIAO Xiao-yong, LI You, <i>et al.</i> (4752)
Lead Uptake and Accumulation in Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) with Water Management and Selenite Fertilization	WAN Ya-nan, LIU Zhe, Aboubacar Younoussa Camara, <i>et al.</i> (4759)
Key Bacteria for the Microbial Degradation of Pollutants in Cellar Water	YANG Hao, YANG Xiao-ni, ZHANG Guo-zhen, <i>et al.</i> (4766)
Oxidation of Humic Acid Complexing As(III) by As(III)-Oxidizing Bacteria	LI Ze-jiao, CUI Yan-shan, YIN Nai-yi, <i>et al.</i> (4778)
A Thermotolerant and Halotolerant Sulfate-reducing Bacterium in Produced Water from an Offshore High-temperature Oilfield in Bohai Bay, China: Isolation, Phenotypic Characterization, and Inhibition	YANG Chun-lu, YUAN Mei-yu, SHI Rong-jiu, <i>et al.</i> (4783)
Isolation and Nitrogen Removal Characteristics of Salt-tolerant Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacteria <i>Zobellella</i> sp. B307	BAI Jie, CHEN Lin, HUANG Xiao, <i>et al.</i> (4793)
Isolation, Identification and Degradation Characteristics of a 17 β -estradiol Degrading Strain <i>Fusarium</i> sp. KY123915	WU Man-li, ZHU Chang-cheng, QI Yan-yun, <i>et al.</i> (4802)
Effect of Fluoroquinolones on Performance and Microbial Community of a Vertical Flow Constructed Wetland	LI Xin-hui, ZHENG Quan, LI Jing, <i>et al.</i> (4809)
Microbial Community Diversity Analysis During Lincomycin Mycelia Dreg with Manure	REN Sheng-tao, GUO Xia-li, LU A-qian, <i>et al.</i> (4817)
Oxidative Stress and DNA Damage Induced by DEP Exposure in Earthworms	PING Ling-wen, LI Xian-xu, ZHANG Cui, <i>et al.</i> (4825)
Mineralogy Characteristics and Heavy Metal Distribution of MSWI Fly Ash	LI Jian-tao, ZENG Ming (4834)